

氏名 畢 克 維

授与した学位 博 士

専攻分野の名称 薬 学

学位授与番号 博乙第3648号

学位授与の日付 平成13年 9月30日

学位授与の要件 博士の学位論文提出者

(学位規則第4条第2項該当)

学位論文の題目 Fundamental studies on molecular epidemiology of *Vibrio mimicus*  
(*Vibrio mimicus*に関する分子疫学的基礎研究)

論文審査委員 教授 篠田純男 教授 山本重雄 教授 土屋友房

#### 学位論文内容の要旨

食中毒原因菌に指定されている *Vibrio mimicus* の臨床分離株 42 株について、食中毒の予防、診断や治療に関連した分子疫学的研究を行った。

まず AP-PCR 法 (arbitrarily primed polymerase chain reaction) により、臨床分離株の遺伝子型を比較した。ほとんどの菌株は独自の遺伝子型となり、その地域に元々棲んでいたと考えられた。しかし、一部の菌株は地理的に離れた地域のものと同じ遺伝子型となり、海外旅行や食品の輸入によって移動した可能性が示唆された。

次に、環境の変化を察知し、毒素などの産生を調節するセンサー蛋白質について、その遺伝子の分布を PCR 法により検討した。グローバルな二成分制御系である ToxR/ToxS の遺伝子は多数の菌株が保有していた。しかし、これとカスケードを形成する ToxT/TcpP の遺伝子は一部の菌株しか保有していなかった。したがって、ToxT/TcpP の限られた分布が本菌の比較的弱い病原性の一因であると考えられた。続いて、毒素遺伝子の分布を検討した。コレラ毒素の遺伝子はわずかに 2 株しか保有していなかった。これに対して、下痢原活性を有する溶血毒素の遺伝子は高頻度に分布していた。つまり、腸炎ビブリオの耐熱性溶血毒素と相同な毒素の遺伝子は 20 株が保有しており、エルトール型コレラ菌の溶血毒素と類似した毒素の遺伝子は 42 株全てが保有していた。これらの結果は、溶血毒素がより重要な毒素であることを強く示唆している。

最後に、本菌による食品や水の汚染を検査する手段として、ホスホリパーゼ遺伝子の mRNA を標的とした RT-PCR 法 (reverse transcription PCR) を開発した。この方法では生きた細菌のみを選択的に高感度に検出できた。さらに、本法は種特異性も高く、*V. mimicus* 以外の菌種は全て陰性の結果となった。

## 論文審査結果の要旨

本論文は食中毒菌の一つである *Vibrio mimicus* の分離株について、病原因子の分布を polymerase chain reaction (PCR) 法などを用いて解析するとともに、食品衛生における疫学場で有用な分子生物学的手法の開発を行ったものである。

病原因子の分布に関しては、コレラ毒素等のいわゆる下痢毒素よりも溶血毒素が本菌においては主要な病原因子となっていること、これらの病原因子を調節する TOXT/TcpP の限られた分布がパンデミーの発生を抑制していることなどを明らかにした。また、溶血毒素遺伝子を基に設計したプライマーを用いて AP-PCR (arbitrarily primed PCR) を行い、本菌の分離株が分離された地域に基づきグループ化されることから、流行の疫学調査に有用な手段であることを示した。さらに、本菌の生菌を迅速に検出するために、ホスホリパーゼ遺伝子の mRNA を標的とした RT-PCR (reverse transcription PCR) を開発した。この方法を用いれば、本菌の生菌を高感度で検出することが可能で、食品衛生学的な意義が深い。

*V. mimicus* はわが国ではあまり患者数が報告されていないが、開発途上国の下痢症の原因として重要なものの一つであり、その疫学的研究が求められているが、これらの研究はそれに大いに資するものであり、博士の学位に値すると判断した。